



**SCHWEIZERISCHE EidGENOSSENSCHAFT  
CONFÉDÉRATION SUISSE  
CONFEDERAZIONE SVIZZERA**

**Bescheinigung**

Die beiliegenden Akten stimmen mit den ursprünglichen technischen Unterlagen des auf der nächsten Seite bezeichneten Patentgesuches für die Schweiz und Liechtenstein überein. Die Schweiz und das Fürstentum Liechtenstein bilden ein einheitliches Schutzgebiet. Der Schutz kann deshalb nur für beide Länder gemeinsam beantragt werden.

**Attestation**

Les documents ci-joints sont conformes aux pièces techniques originales de la demande de brevet pour la Suisse et le Liechtenstein spécifiée à la page suivante. La Suisse et la Principauté de Liechtenstein constituent un territoire unitaire de protection. La protection ne peut donc être revendiquée que pour l'ensemble des deux Etats.

**Attestazione**

I documenti allegati sono conformi agli atti tecnici originali della domanda di brevetto per la Svizzera e il Liechtenstein specificata nella pagina seguente. La Svizzera e il Principato di Liechtenstein formano un unico territorio di protezione. La protezione può dunque essere rivendicata solamente per l'insieme dei due Stati.

Bern, 23. OKT. 2001

Eidgenössisches Institut für Geistiges Eigentum  
Institut Fédéral de la Propriété Intellectuelle  
Istituto Federale della Proprietà Intellettuale

Patentverfahren  
Administration des brevets  
Amministrazione dei brevetti

Rolf Hofstetter



**Patentgesuch Nr. 2000 2314/00**

**HINTERLEGUNGSBESCHEINIGUNG (Art. 46 Abs. 5 PatV)**

Das Eidgenössische Institut für Geistiges Eigentum bescheinigt den Eingang des unten näher bezeichneten schweizerischen Patentgesuches.

**Titel:**

Vorrichtung zur Abgabe bzw. Aufnahme/Abgabe von Flüssigkeitsproben.

**Patentbewerber:**

Tecan Schweiz AG  
Feldbachstrasse 80  
8634 Hombrechtikon

**Vertreter:**

R. A. Egli & Co. Patentanwälte  
Horneggstrasse 4  
8008 Zürich

Anmeldedatum: 29.11.2000

**Prioritäten:**

CH 2252/00 17.11.2000

Voraussichtliche Klassen: G01N

**Uebertragen an:**

Tecan Trading AG  
Haldenstrasse 5  
6342 Baar

**\*Vertreteränderung:**

OK pat AG  
Patente Marken Lizenzen  
Chamerstrasse 50  
6300 Zug

reg: 27. September 2001

**Vorrichtung zur Abgabe bzw. Aufnahme/Abgabe von  
Flüssigkeitsproben**

- 5 Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zur Aufnahme und/ oder Abgabe von Flüssigkeitsproben entsprechend dem Oberbegriff des unabhängigen Anspruchs 1 sowie Systeme, die mehrere solcher Vorrichtungen umfassen.
- 10 Es ist bekannt, dass Tropfen mit einem Volumen von mehr als 10 µl sehr einfach aus der Luft abgegeben werden können, weil die Tropfen bei korrektem Umgang mit der Pipette von selbst die Pipettenspitze verlassen. Die Tropfengrösse wird dann durch die physikalischen Eigenschaften der Probenflüssigkeit, wie Oberflächenspannung oder Viskosität bestimmt. 15 Die Tropfengrösse limitiert somit die Auflösung der abzugebenden Menge Flüssigkeit.

Die Aufnahme und Abgabe, d.h. das Pipettieren von Flüssigkeitenproben mit einem Volumen von weniger als 10 µl verlangt 20 dagegen meist Instrumente und Techniken, welche die Abgabe solch kleiner Proben garantieren. Das Abgeben einer Flüssigkeit mit einer Pipettenspitze, d.h. mit dem Endstück einer Vorrichtung zur Abgabe bzw. Aufnahme/Abgabe von Flüssigkeitenproben kann aus der Luft ("From Air") oder über das Berühren einer Oberfläche geschehen. Diese Oberfläche kann die 25 feste Oberfläche eines Gefäßes ("on Tip Touch") sein, in welches die Flüssigkeitsprobe abgegeben werden soll. Es kann auch die Oberfläche einer sich in diesem Gefäß befindlichen Flüssigkeit ("on Liquid Surface") sein. Ein an das Dispensieren anschliessender Mischvorgang ist - besonders bei sehr kleinen Probenvolumina im Nano- oder gar Picoliter-Bereich - zu empfehlen, damit eine gleichmässige Verteilung des Probenvolumens in einem Diluent gewährleistet ist.

- Wegwerfspitzen reduzieren wesentlich die Gefahr eines unge-  
wollten Übertragens von Probenteilen in ein Gefäß (Kontami-  
nation). Bekannt sind einfache Wegwerfspitzen (sogenannte  
"Air-Displacement Tips"), deren Geometrie und Material für  
5 das reproduzierbare Abgeben bzw. Aufnehmen/Abgeben von sehr  
kleinen Volumina optimiert ist. Die Verwendung von sogenann-  
ten "Positive-Displacement Tips", welche an ihrer Innenseite  
einen Pumpkolben aufweisen, ist ebenfalls bekannt.
- 10 Zum Automatisieren des Pipettierprozesses müssen zwei Vor-  
gänge voneinander unterschieden werden: Die definierte Auf-  
nahme (Aspiration) und die anschliessende Abgabe (Dispensierung)  
von Flüssigkeitsproben. Zwischen diesen Vorgängen wird üblicherweise die Pipettenspitze vom Experimentator  
15 oder einem Automaten bewegt, so dass der Aufnahmeort einer  
Flüssigkeitsprobe von deren Abgabeort verschieden ist. Für  
die Richtigkeit und Reproduzierbarkeit einer Abgabe bzw.  
Aufnahme/Abgabe ist nur das Flüssigkeitssystem wesentlich,  
welches aus Pumpe (z.B. ein als Spritzenpumpe ausgebildeter  
20 Diluter), Flüssigkeitsleitung und Endstück (Pipettenspitze)  
besteht. Unter den vielen möglichen Pumpen zum hochpräzisen  
Aspirieren und Dispensieren von Flüssigkeiten haben sich  
z.B. kommerziell erhältliche Geräte mit dem Namen "CAVRO XL  
3000 Modular Digital Pump" bzw. "CAVRO XP 3000 plus Modular  
25 Digital Pump" bewährt, welche von der Firma Cavro Scientific  
Instruments Inc., Sunnyvale, Californien, USA, vertrieben  
werden. Solche Pumpen umfassen einen Zylinder mit einem dar-  
in beweglichen Kolben und einen Schrittmotor zum Anreiben  
des Kurbels. Der Schrittmotor arbeitet bei einer Spannung  
30 von 24 V und wird durch einen externen Rechner oder Mikro-  
prozessor angesteuert. Weitere Details können z.B. aus dem  
Funktionsbeschrieb "Operators Manual P/N 724043C" von Cavro  
Scientific Instruments Inc. entnommen werden.

Aus US 5,763,278 ist eine Vorrichtung und ein entsprechendes Verfahren bekannt. Es handelt sich um ein automatisches Pipettieren von kleinen Volumina, wobei die Vorrichtung eine Pipettieradel, einen Diluter mit einem Flüssigkeitsausgang mit einer Spritze und einem Ventil umfasst. Die Spritze umfasst einen Kolben und einen Kolbenantrieb. Eine Leitung verbindet die Nadel und den Flüssigkeitsausgang des Diluters, wobei der Diluter und die Leitung eine im Wesentlichen inkompressible Flüssigkeit enthalten. Ein Impulsgenerator ist in der Vorrichtung angeordnet und mit der inkompressiblen Flüssigkeit in der Leitung verbunden, so dass direkt in die Flüssigkeit der Leitung mechanische Impulse mit einer Kraft von mindestens 0.01 Ns abgegeben werden können. Ein solcher Impuls dient dazu, Flüssigkeit aus der Nadel zu treiben. Die Tropfengröße wird durch einen gezielten Vorschub des Diluterkolbens definiert und der Tropfen mit einem Impuls aus der Nadel ausgeworfen. Durch die Definition des Volumens mit dem Diluter hängt die Tropfengröße und deren Reproduzierbarkeit von der Auflösung des Diluters ab und wird durch diesen limitiert.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, eine Vorrichtung zur Abgabe bzw. Aufnahme/Abgabe von Flüssigkeitsproben bis in den Picoliter-Bereich vorzuschlagen, bei welcher die abgegebene Tropfengröße und deren Reproduzierbarkeit nicht von der Auflösung des Diluters abhängt.

Diese Aufgabe wird mit den Merkmalen des unabhängigen Anspruchs 1 gelöst. Zusätzliche Merkmale ergeben sich aus den abhängigen Ansprüchen. Die vorliegende Erfindung soll nun - an Hand von schematischen Zeichnungen, welche bevorzugte Ausführungsbeispiele illustrieren und den Umfang der vorliegenden Erfindung nicht einschränken sollen - näher erläutert werden. Dabei zeigen:

- Fig. 1 einen Vertikalschnitt durch eine einfache Vorrichtung zur Abgabe bzw. Aufnahme/Abgabe von Flüssigkeitsproben;
- 5 Fig. 2 einen Vertikalschnitt durch ein System zur Abgabe bzw. Aufnahme/Abgabe von Flüssigkeitsproben mit einem Array von parallel zu einander angeordneten Pumpen und Endstücken bzw. Spitzen;
- 10 Fig. 3 einen vergrösserten Ausschnitt aus Fig. 2, entsprechend dem dort eingezeichneten Feld;
- 15 Fig. 4 eine horizontale Draufsicht auf eine Anordnung des Kolbenantriebs gemäss einer ersten Ausführungsform;
- 20 Fig. 5 eine horizontale Draufsicht auf eine Anordnung des Kolbenantriebs gemäss einer zweiten Ausführungsform.

Figur 1 zeigt eine Vorrichtung 1 zur Abgabe bzw. Aufnahme/Abgabe von Flüssigkeitsproben mit einer Pumpe 2. Diese Pumpe umfasst einen Zylinderraum 3, der wiederum einen in 25 diesem Zylinderraum beweglichen Kolben 4 und einen am Kolben angreifenden Kolbenantrieb 5 umfasst. Zudem umfasst diese Vorrichtung 1 einen Impulsgenerator 6, welcher - zum Bewirken der Abgabe von Proben aus einer Flüssigkeit - zum Erzeugen von Druckwellen in dieser Flüssigkeit ausgebildet ist.

30 Über eine Leitung 7 ist ein Endstück bzw. eine Spitze 8 mit dem Zylinderraum 3 verbunden. Diese Spitze 8 ist als Stahlnadel gezeichnet, welche direkt am Körper bzw. am Zylinderblock 3' der Pumpe 2 ansetzt. Vorzugsweise schliesst die als Stahlnadel ausgeführte Spitze 8 übergangslos an den Zylinder- 35 derraum 3 der Pumpe 2 an, so dass die Pipettenspitze aus

Stahl eine kontinuierliche Verengung des Pumpenzylinderraumes 3 darstellt. Diese Ausgestaltung verhindert das Auftreten von unerwünschten Wirbeln und ermöglicht die ungehindernte Ausdehnung der durch den Impulsgenerator 6 ausgelösten  
5 Druckwelle in der zu pipettierenden Flüssigkeit.

Der Kolbenantrieb 5 umfasst einen ersten Antrieb 9 und einen, als Impulsgenerator 6 ausgebildeten, zweiten Antrieb 10. Dieser erste Antrieb 9 ist vorzugsweise als Drehspin-  
10 delantrieb ausgebildet und umfasst eine Spindel 11 und eine mit dieser Spindel bewegbare erste Platte 12. Der zweite An-  
trieb 10 umfasst eine zweite Platte 13, welche über einen Impulsgenerator 6 mit der ersten Platte 12 verbunden ist und welche am Kolben 4 angreift.

15

Der von Zylinderraum 3 und Kolben 4, Leitung 7 und Spitze 8 definierte Raum ist vorzugsweise mit einer zusammenhängenden Flüssigkeitssäule gefüllt, so dass das Volumen einer abgegebenen Flüssigkeitsprobe bei gegebener Spitzengeometrie allein durch die Parameter eines einzelnen, durch den Impulsgenerator 6 erzeugten Impulses definiert ist. Der Zylinder-  
raum 3 umfasst vorzugsweise einen Inhalt von 5 bis 200 µl und der Impulsgenerator 6 ist hier als vorgespannter Stapel von Piezo-Elementen 14 ausgebildet. Zusätzliche Ergebnisse zeigen, dass auch mit einer Luftblase bzw. einem "Air Gap"  
25 in der Leitung 7 pipettiert werden kann.

Abweichend von der Darstellung in Fig. 1 kann die Spitze 8 zum Pipettieren von Flüssigkeiten als Nadel aus anderen Materialien oder auch als Wegwerfspitze aus Kunststoff ausgebildet sein. Zumeist wird dann der Übergang von dem Zylinder-  
raum 3 zu der Spitze 8 vorzugsweise mit einem sogenannten Spitzenadapter 8' bewerkstelligt. Ein solcher Spitzenadapter wird bevorzugt aus rostfreiem Stahl hergestellt und ist so  
35 geformt und ausgerüstet, dass ein sicherer und dichter Sitz

für eine beispielsweise aus Kunststoff hergestellte Nadel oder Wegwerfspitze gewährleistet ist. Der Einsatz eines O-Rings zwischen Spitzenadapter 8' und Spitze 8 kann diesen Sitz und die erforderliche Dichtheit günstig unterstützen.

5

Die besondere Anordnung von Pumpe 2, Kolbenantrieb 5, Impulsgenerator 6 und Spitze 8 ermöglicht eine extrem schlanke Bauweise der Vorrichtung 1, so dass diese speziell geeignet ist, einen Baustein in einem System zur Abgabe bzw. Aufnahme/Abgabe von Flüssigkeitsproben zu bilden, welches mehrere solche Vorrichtungen 1 umfasst. So ein System ist beispielsweise ein Pipettierautomat oder ein Dispensierautomat. Ein solches System wird vorzugsweise zur Abgabe von Flüssigkeiten in die Aufnahmetöpfchen ("Wells") von Standard-Mikroplatten mit z.B. 96 Wells (Dispensierung) oder zur Aufnahme von Flüssigkeiten aus der einen und Abgabe der Probe in eine andere Mikroplatte (Pipettierung) verwendet. Die Reduktion der Probenvolumina (z.B. zum Befüllen von hochdichten Mikroplatten mit 384, 864, 1536 oder noch mehr Töpfchen) spielt eine zunehmend wichtige Rolle, wobei der Genauigkeit des abgegebenen Probenvolumens grosse Bedeutung zukommt. Ebenfalls ist der Zeitaufwand für das Abgeben bzw. Transferieren von Proben in diese vielen Töpfchen wesentlich. Es ist klar, dass ein Mehrfaches an parallel bedienbaren Pipettenspitzen den Zeitaufwand für die effektive Probenabgabe bzw. für das Transferieren um den gleichen Faktor reduziert.

Grundsätzlich gilt somit die Überlegung, dass ein System mit n Vorrichtungen, zumindest aber ein solches mit n Pumpen 2, 30 n Leitungen 7 und n Spitzen 8, mit einem ersten Antrieb 9 und einem zweiten Antrieb 10 sowie mit m Impulsgeneratoren nur  $1/n$  der Abgabezzeit eines einzigen mit je einem dieser Bauteile ausgerüsteten Vorrichtung benötigt. Beim Befüllen von hochdichten Mikroplatten spielt somit der Zeitfaktor eine wesentliche Rolle. Besonders wichtig sind diese Überle-

gungen, wenn  $n$  ein Vielfaches von 4 – insbesondere 8, 96 oder 384 – und  $m$  eine ganze Zahl – insbesondere 1, 2 oder 3 – bedeuten.

- 5 Weil die Anordnung der Töpfchen in den Mikroplatten einem zweidimensionalen Array entspricht, werden die Bauteile, wie Pumpe 2, Kolbenantrieb 5, Impulsgenerator 6 und Spitze 8 eines Systems bevorzugt ebenso angeordnet. Um eine kompakte Konstruktion zu erreichen, werden dabei Pumpen 2 und Spitzen 10 8 parallel zu einander angeordnet. Ein Beispiel einer solchen Anordnung ist in Figur 2 dargestellt.

Der Bedarf an schnellen Pipettierautomaten im Life-Science Bereich hat die Entwicklung von Multikanalpipettoren vorangetrieben. Bei den bekannten Lösungen variieren sowohl die Anzahl der Kanäle bzw. der Spitzen als auch die Bereiche der zu pipettierenden Probenvolumina. Als praktizierbare Volumengrenze für die freie Abgabe aus der Luft kann dabei etwa 1  $\mu\text{l}$  angenommen werden.

20 Es sind seit langem Mehrkanal-Systeme bekannt, bei denen 4, 8 oder 12 Pipettierkanäle auf einer Linie verteilt sind. Die Spitzen sind entweder in einem starren Raster angeordnet (wie z.B. die MiniPrep Geräte-Linie von Firma CAVRO Scientific Instruments Inc., Sunnyvale, Californien, USA) oder sie können auf einer Linie gespreizt werden (wie z. B. die GENESIS Geräte-Linie von TECAN Schweiz AG, Feldbachstrasse 80, 8634 Hombrechtikon). Die Pipettierkanäle werden entweder über einen Schrittmotor mit einer oder mehreren Spritzen gemeinsam oder über die gleiche Anzahl Dilutoren wie Spritzen individuell betrieben.

35 Mehrkanalsysteme für Volumina im Submikroliterbereich sind als starre zweidimensionale Kämme (wie z. B. der PixSys4500 von Cartesian Technologies, Inc.; 17851 Sky Park Circle, Ir-

vine, CA 92614, USA) oder aus EP 0 956 449 bekannt. Diese zweidimensionalen Kämme von Pipetten genügen jedoch den heutigen Ansprüchen an den Probendurchsatz meist nicht mehr.

- 5, In drei Dimensionen angeordnete Multikanalpipettoren sind ebenfalls bekannt. Sie können als 96 Spitzengerät mit 96 individuellen Schläuchen und 96 individuellen Spritzen, welche jeweils in Achtergruppen von einem gemeinsamen Schrittmotor angetrieben werden (wie z. B. die MICROLAB MPH-96 Workstation von Hamilton Bonaduz AG, P.O. Box 26, 7402 Bonaduz Schweiz). Dieses System ist wegen der grossen Anzahl Spritzen und Motoren sehr aufwändig und teuer. Zudem ist es schwierig, störende Luftblasen aus allen Schläuchen zu entfernen.

- 15 Es werden auch Arrays mit bis zu 384 einzelnen Glasspritzen mit Kanülen im Raster einer 384 Mikroplatte angeordnet. Die Stempel der Spritzen werden von einem einzelnen Schrittmotor simultan bewegt (wie z. B. die Hydra von Robbins Scientific, 1250 Elko Drive, Sunnyvale, CA 94089-2213, USA). Das Verfahren ist wegen der vielen Spritzen teuer. Es ist nicht auf Wegwerfspritzen ausbaubar.

- Anstelle von Dilutern, Spritzen oder Kolben werden auch Metallbälge eingesetzt (vgl. US 5,638,986). Wegen der kleineren zu bewegenden Masse werden Abgabegeschwindigkeiten erreicht, die geeignet sind, Volumina bis 0.5 µl aus der Luft abzugeben (wie z. B. der Liliput Dispenser von Fluilogic Systems Oy, Luoteisrinne 4, 02270 Espoo, Finland). Ein Nachteil aber besteht darin, dass sich die Metallbälge nicht wie z. B. ein Diluter kalibrieren lassen.

- Das häufigste Konstruktionsprinzip von dreidimensional angeordneten Multikanalpipettoren umfasst eine Platte an bzw. in der 96 oder 384 Kolben oder Stempel befestigt sind. Diese

Platte wird mit den Kolben zum Aspirieren bzw. Dispensieren von einem oder mehreren Motoren auf und ab bewegt.

Der generelle Nachteil all dieser Systeme (mit Ausnahme der Metallbälge) liegt darin, dass Volumina im Submikroliterbereich nur "on Tip Touch" oder "on Liquid Surface", nicht aber berührungslos, direkt aus der Luft abgegeben werden können. Ein Multikanal-System entsprechend der vorliegenden Erfindung ermöglicht dagegen, die pipettierbaren Volumina bis in den Nanoliter-Bereich zu verkleinern.

Figur 2 zeigt einen Vertikalschnitt durch ein System zur Abgabe bzw. Aufnahme/Abgabe von Flüssigkeitsproben mit einem Array von parallel zu einander angeordneten Pumpen 2 und Spitzen 8. Das dargestellte Beispiel symbolisiert ein Array von 12 x 8, d.h. 96 Pumpen 2 und Spitzen 8. Dieses Array entspricht dem Format und der Anordnung einer Mikroplatte mit 96 Töpfchen. Jedes Bauelement dieses Systems umfasst eine Vorrichtung 1 zur Abgabe bzw. Aufnahme/Abgabe von Flüssigkeitsproben mit einer Pumpe 2, welche einen Zylinderraum 3, einen in diesem Zylinder beweglichen Kolben 4 und einen am Kolben angreifenden Kolbenantrieb 5 umfasst, mit einem Impulsgenerator 6, welcher - zum Bewirken der Abgabe von Proben aus einer Flüssigkeit - zum Erzeugen von Druckwellen in dieser Flüssigkeit ausgebildet ist und mit einer über eine Leitung 7 mit dem Zylinderraum 3 verbundenen Spalte 8. Jeder Zylinderraum 3 umfasst vorzugsweise einen Inhalt von 5 bis 200 µl, wobei sich der genaue Bereich nach der Auslegung richtet, die entsprechend einem geplanten Einsatz konzipiert werden kann. Diese Bauelemente sind dadurch gekennzeichnet, dass der Kolbenantrieb 5 einen ersten Antrieb 9 und einen, als Impulsgenerator 6 ausgebildeten, zweiten Antrieb 10 umfasst. Pro Pipettierkanal kann je ein solcher Antrieb 9,10 vorgesehen sein, es können aber auch einzelne Teile der An-

triebe 9,10 in Baugruppen vereinfacht oder zusammengefasst werden.

Die ganze Matrix der 96 Kolben 4 wird hier durch drei Spindeln 11 bewegt. Dabei wirken diese drei Spindeln auf die erste Platte 12 und über die drei Piezo-Stapel 14 auf die zweite Platte 13, welche wiederum auf die Kolben 4 in den Zylindern wirkt. Die Spindeln 11 werden durch je einen Präzisionsmotor 17 angetrieben, so dass ein erster Antrieb 9 10 drei simultan drehende Spindeln 11 umfasst, welche auf eine gemeinsame erste Platte 12 wirken. Der erste Antrieb 9 dient zum Bewegen der Kolben 4 beim Aufnehmen von Flüssigkeit (Aspirieren) und zum Nachliefern von Flüssigkeit in die Spitzen 8 vor, während bzw. nach der Abgabe von Flüssigkeitsproben (Dispensieren) aus denselben.

Der zweite Antrieb 10 umfasst hier drei, je einen vorgespannten Stapel von Piezo-Elementen 14 aufweisende, Impulsgeneratoren 6, welche die erste Platte 12 mit der zweiten 20 Platte 13 verbinden. Vorzugsweise sind die beiden Platten 12,13 permanent so über die Piezo-Stapel miteinander verbunden, dass sie durch diese Piezo-Aktuatoren schwingungsfrei aufeinander zu und voneinander weg bewegt werden können. Eine Aktuierung der Piezo-Stapel bewegt die zweite Platte 13 25 und damit auch die Kolben 4 vorzugsweise um bis zu 20 µm. Die zweite Platte 13 greift simultan an allen 96 Kolben 4 an. Zu diesem Zweck weist die zweite Platte 13 Ausnehmungen 18 auf, in welche die freien Enden 19 der Kolben 4 eingreifen bzw. in welchen diese Enden 19 gehalten sind. Die 96 30 Kolben 4 sind Bestandteil eines Arrays von 96, parallel zu einander angeordneten Pumpen. Die Zylinder sind als Bohrungen 21 in einem Zylinderblock 3' ausgebildet, in denen je ein Kolben 4 beweglich angeordnet ist. An die Zylinderräume 3 schliessen 96 Leitungen 7 bzw. 96 Spitzen 8 an.

Die Endstücke bzw. Spitzen 8 können einzeln, d.h. für jeden Kanal individuell (wie unter Fig. 1 beschrieben) oder als Spitzenplatte 16,16' mit einer entsprechenden Anzahl von hier 96 Spitzen 8 ausgebildet sein. In Fig. 2 sind (von 5 links nach rechts) vier Beispiele von Spitzen 8 abgebildet, dabei sind die ersten drei als einzelne Stahlspitzen 8, die zweiten drei als Stahlspitzenplatte 16, die dritten drei als einzelne Wegwerfspitzen 8 und die vierten drei als Wegwerf-spitzenplatte 16' dargestellt. Vorzugsweise sind jeweils 10 zwischen den Spitzen 8 und deren Adaptern 8' Dichtungen (nicht gezeichnet) angeordnet, damit ein sicherer Sitz der Spitzen 8 auf ihrem jeweiligen Adapter 8' bzw. die Dichtheit der Leitung 7 zwischen Kolben 4 und Pipettenspitze 8. garantiert ist.

15 Damit Luftblasen in der Flüssigkeit, welche die Zylinderräume 3, die Leitungen 7 und die Spitzen 8 füllt, verhindert werden oder daraus entfernt werden können, ist zum Spülen der Zylinderräume 3 im Zylinderblock 3' ein Kanalsystem 15 vorgesehen. Über eine (nicht gezeigte) Leitung kann somit 20 das ganze Kanalsystem 15 und alle Zylinderräume 3 von hinten (nicht durch die Pipettenspitzen 8) mit Flüssigkeit gefüllt und so gespült werden. Die Mündung dieses Kanalsystems 15 im Bereich der Zylinderräume 3 ist in Fig. 3 dargestellt. Die 25 Zylinderräume 3 sind in diesem Ausführungsbeispiel identisch mit dem Innenraum von Hülsen 20, welche in Bohrungen 21 des Zylinderblocks 3' eingesetzt sind. Alternativ dazu können die Bohrungen 21 im Zylinderblock 3' direkt als Zylinder benutzt werden (vgl. Fig. 2). Alternativ zum in Fig. 3 gezeigten, Einzelkanäle 27 aufweisenden Kanalsystem 15 kann die 30 Versorgung der Pumpen 2 über ein einfacheres Kanalsystem 15 (vgl. Fig. 2) erfolgen. Dieses erstreckt sich im Wesentlichen über die ganze Fläche der Platten 12,13 in etwa gleicher Höhe und stellt einen einfachen, zusammenhängenden 35 Hohlraum dar.

Werden Hülsen 20 verwendet, so weisen diese eine seitliche, vorzugsweise durchgehende Öffnung 22 auf, welche mit dem Kanalsystem 15 kommuniziert. Damit die individuelle Drehlage der Hülsen 20 keinen Einfluss auf die Erschliessung durch das Kanalsystem 15 hat, weist das Kanalsystem im Bereich jeder Hülse 20 eine Erweiterung 23 auf. Vorzugsweise wird in diesem Fall der Zylinderblock 3' zweiteilig hergestellt. Dabei werden in einem ersten Teil 24 des Zylinderblocks 3' kreisförmige Vertiefungen 26 und in einem zweiten Teil 25 des Zylinderblocks 3' die Einzelkanäle 27 des Kanalsystems 15 angeordnet. Dies kann - entsprechend dem Material (Glas, Stahl, Kunststoff etc.), das für die Teile des Zylinderblocks 3' ausgewählt wird - durch Eingraben, Fräsen, Ätzen oder mit sonstwie geeigneten Methoden geschehen. Auch ein Spritzgussteil 24,25 aus Kunststoff kann solche Kanäle 27 aufweisen.

Alternativ zu dieser Ausführung können auch Vertiefungen 26 und Einzelkanäle 27 in einen Teil des Zylinderblocks 3' eingefügt sein und der andere Teil des Zylinderblocks 3' kann als Platte ausgeführt sein. In Abweichung von der Darstellung in Fig. 3 können die unteren Enden der Hülsen 20 direkt als Spitzenadapter 8' ausgebildet sein. Zudem kann die Aktivierung, d.h. die Druckwellenerzeugung, abweichend vom Einsatz eines oder mehrerer Piezo-Stapel, z.B. durch einen pneumatischen, magnetischen oder thermischen Impulsgenerator bewerkstelligt werden. Ebenfalls alternativ zu den gezeigten Ausführungsformen kann die erste und/oder die zweite Platte (12,13) eine von der rechteckigen Form abweichende Gestalt aufweisen und z.B. eine quadratische, hexagonale, oktagonale, ovale oder auch runde Form besitzen.

Ein Impuls wird von den als Piezo-Stapel 14 ausgebildeten Impulsgeneratoren 6 auf die zweite Platte 13 abgegeben. Diese Platte 13 gibt den Schlag weiter an die einzelnen Kolben

- 4, welche eine entsprechend kurze und gezielte Bewegung in ihren Zylinderräumen 3 ausführen. Diese Bewegung löst in der Flüssigkeit in jedem Zylinderraum 3 simultan eine Druckwelle aus. Die Position der Kolben 4 innerhalb des Zylinderraumes
- 5 3 wird für dieses Auslösen von Druckwellen (abweichend von der Darstellung in Fig. 3) vorzugsweise so gewählt, dass die freien Kolbenenden 19 zwischen die Öffnungen 22 und die Leitung 7 zu liegen kommen. Dadurch sind die Öffnungen 22 durch die Kolben 4 verschlossen und die Druckwelle kann sich
- 10 wunschgemäß nur zur Pipettenspitze 8 hin in der Flüssigkeit ausbreiten. Vorzugsweise weisen die Öffnungen 22 eine möglichst grosse Fläche und die Einzelkanäle 27 einen grossen Innendurchmesser auf, damit die Waschflüssigkeit einen möglichst geringen Flusswiderstand erfährt.
- 15 Abweichend von diesen Darstellungen in Fig. 2 und 3 können nur beispielsweise 4 oder 8 bzw. auch 16 oder mehr Pumpen 2 und Spitzen 8 in einem linearen Array, welches aus einer einzigen Reihe besteht, angeordnet sein. Vorzugsweise werden
- 20 aber 96, 384 oder mehr Pumpen 2 und Spitzen 8 parallel in einem zweidimensionalen Array so angeordnet, dass dieses Array dem Format und der Anordnung einer Mikroplatte mit 96, 384, 864, 1536 oder mehr Töpfchen entspricht. Ein solches Array von je parallel zueinander angeordneten Pumpen 2 und
- 25 Spitzen 8 erlaubt das gleichzeitige Aspirieren oder Dispensieren von 96, 384 oder mehr Proben, wodurch die Zeit zum Bearbeiten einer entsprechenden, hochdichten Mikroplatte erheblich verkürzt werden kann.
- 30 Figur 4 zeigt, in einer horizontale Draufsicht, eine Anordnung des Kolbenantriebs 5 gemäß einer ersten Ausführungsform. Drei Spindeln 11 und drei Impulsgeneratoren 6 sind von der Mitte des Zylinderblocks 3' bzw. der beiden Platten
- 35 12,13 jeweils um die gleiche Distanz entfernt, welche auch zwischen ihnen und den nächstliegenden Impulsgeneratoren 6

bzw. Spindeln 11 liegt. Dadurch ergibt sich eine dreizählig  
Symmetrie, deren Zentrum 28 in der Mitte des Zylinderblocks  
3' bzw. der beiden Platten 12,13 liegt. Diese Symmetrie er-  
möglicht eine gleichmässige Verteilung der Kräfte in den  
5 Platten 12,13 und damit eine gleichmässige Verschiebung der-  
selben mit dem ersten Antrieb 9 und dem zweiten Antrieb 10.  
Auch hier wird mit dem ersten Antrieb die Flüssigkeit in die  
Spitzen nachgeliefert, so dass vor jedem Impuls durch den  
zweiten Antrieb eine vorzugsweise zusammenhängende Flüssig-  
keitssäule den aktiven Raum von Zylinderraum 3, Leitung 7  
10 und Spitze 8 ausfüllt. Die beschriebene Anordnung hat den  
Vorteil, dass die Ebenen der Platten 12,13 nie überbestimmt  
sind und dass nur drei Piezo-Stapel genügen, um gleichzeitig  
96 oder auch 384 oder mehr Proben abzugeben.

15 Figur 5 zeigt eine horizontale Draufsicht auf eine Anordnung  
des Kolbenantriebs gemäss einer zweiten Ausführungsform. Im  
Unterschied zu Figur 4 sind hier die Spindeln 11 und die Im-  
pulsgeneratoren 6 nicht auf einem gemeinsamen Teilkreis  
20 (gestrichelt gezeichnet) angeordnet. Die Spindeln 11 bzw.  
die Impulsgeneratoren 6 definieren aber sowohl in Figur 4  
als auch in Figur 5 je ein Dreieck, dessen Schwerpunkt immer  
mit dem Symmetriezentrum 28 übereinstimmt. Die damit er-  
reichte Symmetrie ermöglicht eine gleichmässige Verteilung  
25 der Kräfte in den Platten 12,13 und damit eine gleichmässige  
Verschiebung derselben mit dem ersten Antrieb 9 und dem  
zweiten Antrieb 10. Weitere Anordnungen, die diesem Symme-  
trie-Prinzip entsprechen, gehören zu Umfang dieser Erfin-  
dung.

30 In der Praxis hat sich eine weitere Variante einer Anordnung  
der Impulsgeneratoren 6 bewährt, bei welcher die Piezo-  
Stapel 14 in den Ecken eines gleichschenkligen Dreiecks an-  
geordnet sind, die Basis dieses Dreiecks im Wesentlichen  
35 parallel zu einer Längskante der Platten 12,13 verläuft und

etwa 1/3 deren Länge misst. Wiederum liegt der Schwerpunkt dieses Dreiecks im Symmetriezentrum 28 der Platten 12, 13.

Die entsprechenden Bestandteile sind in den Figuren mit den  
5 gleichen Bezugszeichen versehen.

Zum Pipettieren aus z.B. einer 96-well Mikroplatte werden im Fall der Verwendung von Wegwurfspitzen diese zuerst aufgenommen. Die Platten 12, 13 werden mit dem ersten Antrieb 9  
10 so weit zurückgezogen, dass die Enden 19 der Kolben 4 hinter die Öffnungen 22 in den Hülsen 20 zu liegen kommen. Danach werden die Kanäle 27, die Zylindrerräume 3, die Leitungen 7 bzw. die Spitzen 8 und Spitzenadapter 8' mit Systemflüssigkeit (z.B. mit deionisiertem oder destilliertem Wasser) ge-  
15 spült bzw. gefüllt. Anschliessend werden die Kolben 4 in Richtung der Spitzen 8 bewegt, um die Pumpen 2 für die Flüssigkeitsaufnahme über die Spitzen (Aspirieren) vorzubereiten. Werden die Kolben 4 dabei bis zu einer vordersten Position bewegt, so wird eine maximale Aspirationskapazität be-  
20 reitgestellt. Nach dem Bewegen des Arrays mit 96 Pumpen 2 und Spitzen 8 über die aufzunehmende Flüssigkeit, werden die Spitzen etwas in die Flüssigkeit eingetaucht. Durch Zurückziehen der Kolben 4 mit dem ersten Antrieb 9, wobei der Weg durch die Drehung der Spindeln 11 bestimmt wird, erfolgt die  
25 Aufnahme (Aspiration) der zu pipettierenden Flüssigkeit und zwar zeitgleich in allen Spitzen 8.

Für die Abgabe (Dispensierung) werden die Kolben 4 gegen die Spitzen 8 hin bewegt. Um einen sauberen Abriss der Flüssigkeit von den Spitzen 8 und damit genaue Volumina zu erzeugen, ist eine gewisse Mindestgeschwindigkeit und ein abruptes Stoppen der Kolben 4 am Ende der Abgabe erforderlich.  
30 Für abzugebende Volumina im Mikroliter-Bereich genügt meistens der erste Antrieb 9 für eine genaue Probenabgabe. Im Submikroliter-Bereich hingegen reichen Beschleunigung und  
35 abruptes Stoppen des Spindelantriebs nicht mehr, um einen sauberen Abriss der abzugebenden Flüssigkeit zu gewährlei-

23.14.2001  
sten. Aus diesem Grund werden die Kolben 4 zusätzlich mit dem zweiten Antrieb 10 durch Piezo-Aktuierung bewegt.

- Diese Aktuierung erfolgt durch entsprechende, mit einer Frequenz von 1 bis 1000 Hz an die Piezo-Stapel 14 abgegebene, elektrische Rechteckimpulse, welche - gleichzeitig mit der Bewegung der Kolbenmatrix - ausgeführt und zusammen mit dieser das zu dispensierende Volumen der Proben bestimmt. Diese Bewegungen der beiden Antriebe 9,10 werden vorzugsweise so synchronisiert, dass der erste Impuls mit Beginn und der letzte Impuls mit dem Ende der Fahrbewegung der Kolben 4 erfolgt. Durch diese Synchronisation stellt die Piezo-Aktuierung auch bei langsamen Bewegungen der Kolbenmatrix einen sauberen Tropfenabriss sicher. Dies wird wie beschrieben durch eine Übertragung des durch die Impulsgeneratoren 6 ausgelösten und mit der zweiten Platte 13 auf die Kolben 4 und damit auf die Flüssigkeit in den Zylinderräumen 3 übertragenen Impulse ermöglicht.
- Für das Dispensieren im Bereich weniger nl kann das Einzel-tropfen-Volumen auch allein durch die Stärke der Piezo-Aktuierung bestimmt werden. Das abgegebene Gesamtvolumen ergibt sich dann aus der Anzahl der Tropfen und deren Inhalt. Die Einzeltropfengrösse wird bei dieser Art des Dispensierens hauptsächlich durch die Stärke der Aktuierung und durch den Öffnungsdurchmesser der Pipettenspitze 8 bestimmt. Diese beiden Parameter werden denn auch vorzugsweise auf die Menge und die physiko-chemischen Eigenschaften der zu pipettierenden Flüssigkeit abgestimmt.
- Aus dem Gesagten ergeben sich vier Betriebsmodi:

A Grosse Volumina

- Die Abgabe von Volumina von über einem Mikroliter geschieht durch den Vorschub der Kolben 4 und wird allein von dem als Spindelantrieb ausgebildeten ersten Antrieb 9 bestimmt.

B Mittlere Volumina

Die Abgabe von Tropfen zwischen 0.5 und 1  $\mu\text{l}$  geschieht durch den Vorschub der Kolben 4 und wird von dem als Spindelantrieb ausgebildeten ersten Antrieb 9 bestimmt.

5 Die zusätzliche Piezo-Aktivierung ermöglicht den sauberen Tropfenabriss. Weiterhin sind folgende Varianten möglich:

10 B1 Nach dem Vorschub des Kolbens 4 wird der Piezo-Stack einmal betätigt, um den Tropfenabriss aus der Luft zu gewährleisten.

15 B2 Vor dem Vorschub des Kolbens 4 wird der Piezo einmal betätigt, um in der Spitze eine definierte Abrisskante zu erzeugen. Das Volumen wird durch den Vorschub des Kolbens 4 definiert und die Piezo-Aktivierung ermöglicht einen Tropfenabriss an derselben Stelle.

20 B3 Während des ganzen Vorschubs des Kolbens 4 wird der Piezo-Aktuator angeregt und des Flüssigkeitsstrahl in Einzeltropfen "zerhackt". Das Volumen wird durch den Vorschub definiert.

C Kleine Volumina

25 Die Abgabe von Tropfen von weniger als 0.5  $\mu\text{l}$  geschieht durch den als Piezo-Aktivierung ausgebildeten zweiten Antrieb 10. Der Vorschub der Kolben 4 mit dem als Spindelantrieb ausgebildeten ersten Antrieb 9 dient zur Kompensation der abgegebenen Volumina. Idealerweise erfolgt die Kompensation so, dass der Raum, welcher durch Zylinderraum 3, Kolben 4, Leitung 7 und Spitze 8 definiert wird, zumindest vor der nächsten Impulsabgabe mit einer zusammenhängenden Flüssigkeitssäule vollständig gefüllt ist. Somit wird bei der Verwendung der erfindungsgemäßen Systeme das Volumen einer abgegebenen Flüssigkeitsprobe bei gegebener Spitzengeometrie allein durch die Parameter

eines einzelnen, durch die Impulsgeneratoren 6 erzeugten Impulses definiert.

D Wird die Flüssigkeitssäule ein wenig hinter die Spitzenöffnung zurückgezogen, wird es möglich, einzelne Tropfen von bis zu 10 nl mit einzelnen Impulsen des Piezo-Aktuators aus einer Spitzenöffnung von bis zu 500  $\mu\text{m}$  Durchmesser herauszuschleudern. Das Tropfenvolumen nur von der Impulsstärke, nicht aber von Öffnungs durchmesser abhängig.

Alle obengenannten Pipettiermodi können sowohl mit als auch ohne Luftblase (Separation Air Gap) zur Trennung von Probe und Systemflüssigkeit angewendet werden. Ebenfalls sind so-wohl fix montierte Spitzen als auch wegwerfbare Kunststoffspitzen verwendbar.

Ohne Separation Air Gap kann etwas präziser als mit Air Gap pipettiert werden, hingegen wird die Probe durch die Systemflüssigkeit etwas verdünnt, was bedingt, dass etwas mehr Probenmaterial aspiriert wird, als dispesiert wird. Der leicht verdünnte Rest wird verworfen.

Ein grosser Vorteil der erfindungsgemässen Vorrichtungen und Systeme ist insbesondere darin zu sehen, dass mit einem einzigen Gerät grosse, mittlere und kleine Probenvolumina mit hoher Genauigkeit und mit einer praktisch beliebigen Anzahl Kanälen (Einzelpipette bis zu Arrays mit 384 und mehr Pipetten) abgegeben werden können.

Der Öffnungs durchmesser der Pipettenspitzen 8 beträgt je nach dem erwünschten Volumenbereich der abzugebenden Proben 25  $\mu\text{m}$  bis 500  $\mu\text{m}$ . Der Innendurchmesser der Pipettenspitzen bzw. der Nadeln verjüngt sich von ca. 0.5 mm bis 1 mm bis zum Auslass der Spalte 8 hin. Die Stirnfläche der Spalten 8

soll im Rahmen der Herstellungsmöglichkeiten so klein wie möglich sein.

Die erfindungsgemäßen Vorrichtungen 1 und Systeme umfassen 5 vorzugsweise einen - z.B. eingebauten oder auch beigestellten - Computer zur Synchronisation der beiden Antriebe 9,10 bzw. zur Steuerung der Abgabe bzw. Aufnahme/Abgabe von Flüssigkeitsproben.

10

## Patentansprüche

1. Vorrichtung (1) zur Abgabe bzw. Aufnahme/Abgabe von Flüssigkeitsproben mit einer Pumpe (2), welche einen Zylinderraum (3), einen in diesem Zylinderraum beweglichen Kolben (4) und einen am Kolben angreifenden Kolbenantrieb (5) umfasst, mit einem Impulsgenerator (6), welcher - zum Bewirken der Abgabe von Proben aus einer Flüssigkeit - zum Erzeugen von Druckwellen in dieser Flüssigkeit ausgebildet ist und mit einer über eine Leitung (7) mit dem Zylinderraum (3) verbundenen Spitze (8), **dadurch gekennzeichnet, dass** der Kolbenantrieb (5) einen ersten Antrieb (9) und einen, als Impulsgenerator (6) ausgebildeten, zweiten Antrieb (10) umfasst.
2. Vorrichtung nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, dass** der von Zylinderraum (3), Kolben (4), Leitung (7) und Spitze (8) definierte Raum mit einer zusammenhängenden Flüssigkeitssäule gefüllt und dass das Volumen einer abgegebenen Flüssigkeitsprobe allein durch die Parameter eines einzelnen, durch den Impulsgenerator (6) erzeugten Impulses definiert ist.
- 25 3. Vorrichtung nach Anspruch 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet, dass** der erste Antrieb (9) eine mit einer Spindel (11) bewegbare, erste Platte (12) und der zweite Antrieb (10) eine über einen Impulsgenerator (6) mit der ersten Platte (12) verbundene und am Kolben (4) angreifende, zweite Platte (13) umfasst.
4. Vorrichtung nach Anspruch 1,2 oder 3, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Zylinderraum (3) einen Inhalt von 5 bis 200 µl fasst.

5. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Impulsgenerator (6) als vorgespannter Stapel von Piezo-Elementen (14) ausgebildet ist.

5

6. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Spitze (8) als Wegwerfspitze oder Nadel aus Stahl oder anderen Materialien zum Pipettieren von Flüssigkeiten ausgebildet ist.

10

7. System zur Abgabe bzw. Aufnahme/Abgabe von Flüssigkeitsproben, **dadurch gekennzeichnet, dass** es mehrere Vorrichtungen (1) nach einem der Ansprüche 1 bis 6 umfasst.

15

8. System nach Anspruch 7, **dadurch gekennzeichnet, dass** es n Pumpen (2), n Leitungen (7) und n Spitzen (8), einen ersten Antrieb (9) und einen zweiten Antrieb (10) mit m Impulsgeneratoren (6) umfasst, wobei n eine ganze Zahl – insbesondere 8, 96 oder 384 – und m eine ganze Zahl – insbesondere 1, 2 oder 3 – bedeuten.

20

9. System nach Anspruch 7 oder 8, **dadurch gekennzeichnet, dass** es ein Array von parallel zu einander angeordneten Pumpen (2) und Spitzen (8) umfasst, wobei dieses Array dem Format und der Anordnung einer Mikroplatte mit 96, 384, 864, 1536 oder mehr Töpfchen entspricht.

25

10. System nach Anspruch 9, **dadurch gekennzeichnet, dass** es ein Array von 96, 384 oder mehr parallel zu einander angeordneten Pumpen (2), Leitungen (7) und Spitzen (8), einen zumindest drei Spindeln (11) umfassenden, auf eine gemeinsame erste Platte (12) wirkenden ersten Antrieb (9) und einen zumindest drei, je einen vorgespannten Stapel von Piezo-Elementen (14) aufweisende, Impulsgeneratoren (6) umfassenden, zweiten Antrieb (10) umfasst,

30

35

wobei der zweite Antrieb (10) zudem eine über die drei Impulsgeneratoren (6) mit der ersten Platte (12) verbundene und simultan an allen Kolben (4) angreifende, zweite Platte (13) umfasst.

5

11. System nach einem der Ansprüche 7 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass es ein Kanalsystem (15) umfasst, welches in jeden der Zylinderräume (3) mündet.

10 12. System nach einem der Ansprüche 7 bis 11, dadurch gekennzeichnet, dass die Spitzen (8) als wegnehmbare bzw. automatisch aufnehm- und wegwerfbare Spitzenplatte (16,16') ausgebildet sind.

15 13. System nach einem der Ansprüche 7 bis 12, dadurch gekennzeichnet, dass es einen Computer zur Steuerung der Abgabe bzw. Aufnahme/Abgabe von Flüssigkeitsproben umfasst.

20

### Zusammenfassung

Die vorliegende Erfindung betrifft eine Vorrichtung (1) zur  
5 Abgabe bzw. Aufnahme/Abgabe von Flüssigkeitsproben mit einer  
Pumpe (2), welche einen Zylinderraum (3), einen in diesem  
Zylinderraum beweglichen Kolben (4) und einen am Kolben an-  
greifenden Kolbenantrieb (5) umfasst. Die Vorrichtung um-  
fasst zudem einen Impulsgenerator (6), welcher - zum Bewir-  
10 ken der Abgabe von Proben aus einer Flüssigkeit - zum Erzeu-  
gen von Druckwellen in dieser Flüssigkeit ausgebildet ist  
und eine über eine Leitung (7) mit dem Zylinderraum (3) ver-  
bundene Spitze (8). Solche Vorrichtungen (1) sind dadurch  
gekennzeichnet, dass der Kolbenantrieb (5) einen ersten An-  
15 trieb (9) und einen, als Impulsgenerator (6) ausgebildeten,  
zweiten Antrieb (10) umfasst. Des Weiteren betrifft die Er-  
findung auch Systeme mit z.B. 384 oder mehr solcher Vorrich-  
tungen, welche in einem Array angeordnet sind.

20

(Fig. 2)

25

Fig. 1

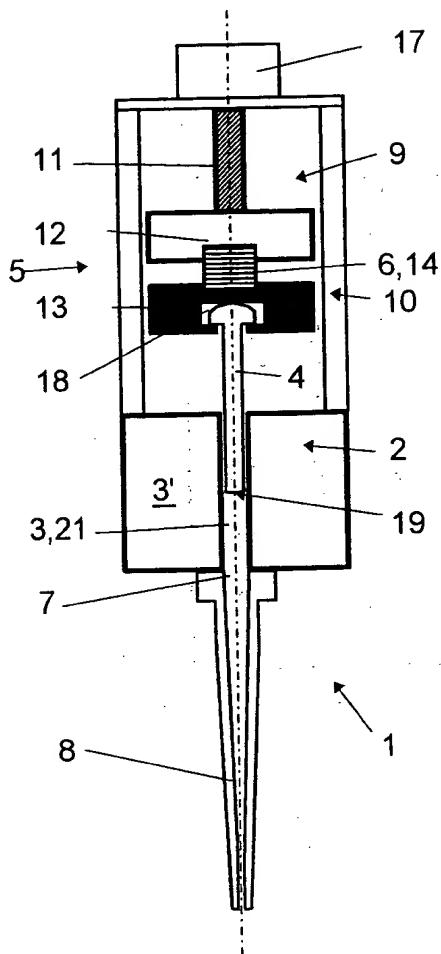


Fig. 3

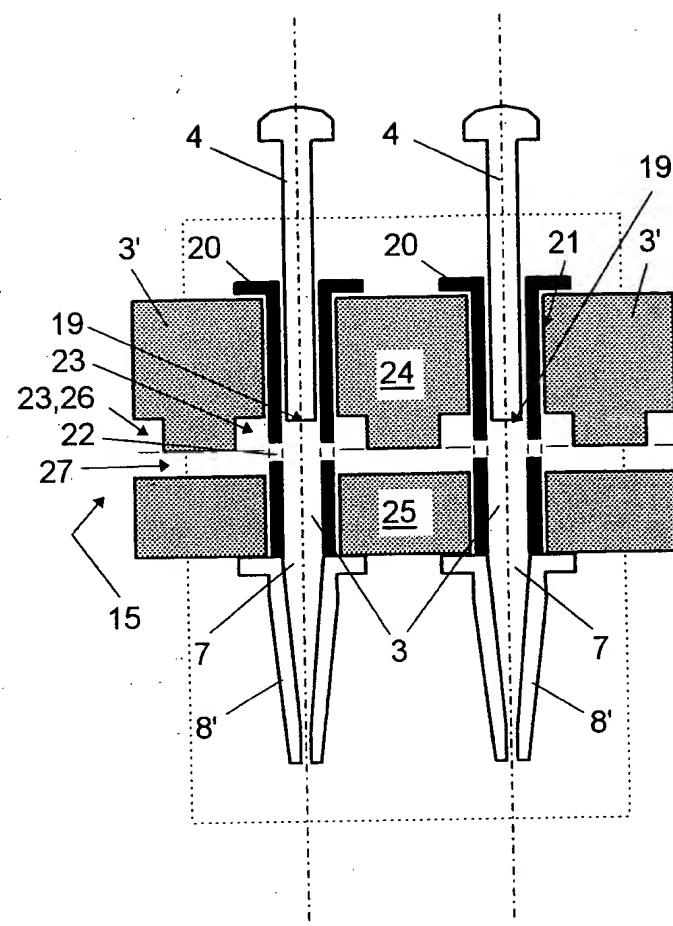


Fig. 2

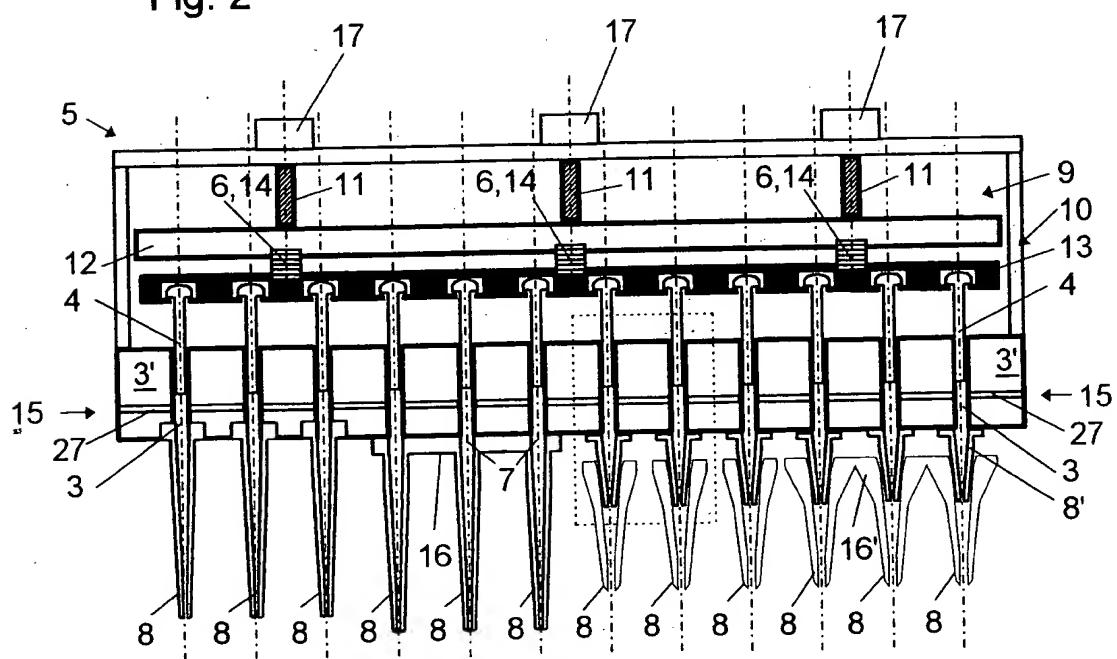


Fig. 4

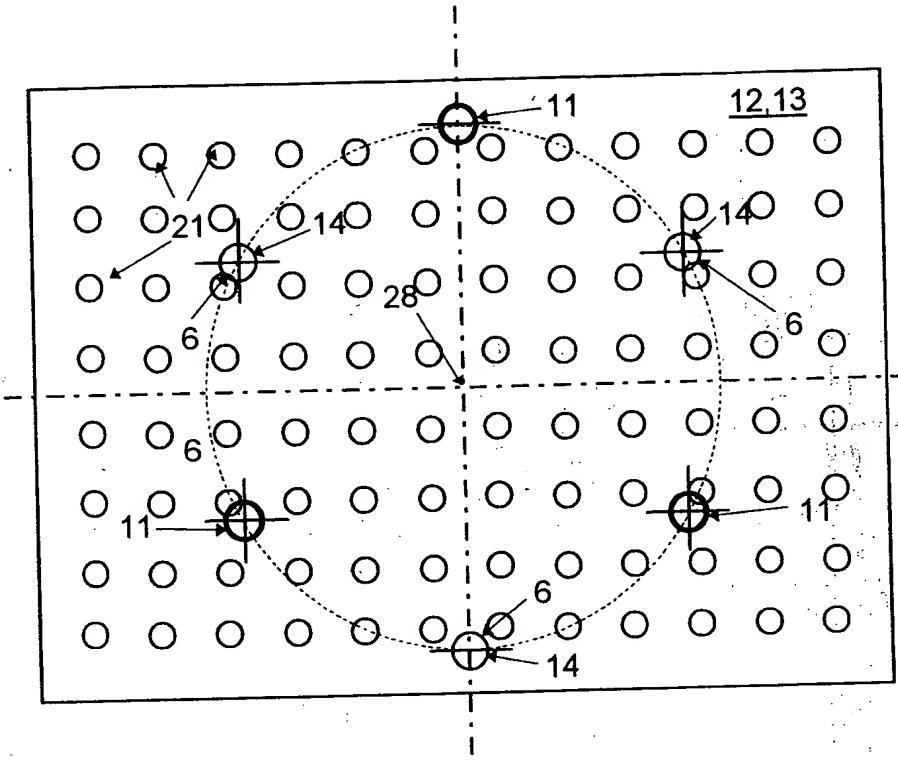


Fig. 5

